生境片段化对新疆野苹果种群遗传结构的影响①

张宏祥[1]， 郑田勇[2]
（1. 中国科学院新疆生态与地理研究所干旱区生物地理与生物资源重点实验室，新疆 乌鲁木齐 830011；
2. 中国科学院华南植物园，广东 广州 510650）

摘 要： 生境片段化对植物种群具有复杂的遗传效应。在地理种群内部，新疆野苹果（*Malus sieversii*）呈现出多个片段化小群体。本研究选取遗传多样性较高的巩留种群作为研究对象，利用微卫星（SSR）标记采自 5 个小群体样点的 101 个植株样品基因型。通过分析不同小群体间的遗传多样性差异与遗传谱系关系，来探究生境片段化对新疆野苹果种群遗传结构的影响。结果表明：5 个小群体间存在着遗传多样性差异，其中处于边缘位置的萨哈和小莫合尔 2 小群体保存了高水平的遗传多样性；由于地理隔离效应作用，这 5 个小群体可以划分为东西两个不同的遗传谱系。建议在将来开展的新疆野苹果种质资源保育和核心种质库构建过程中，应当注重这些边缘小群体和不同的遗传谱系。

关键词： 新疆野苹果；生境片段化；种质资源；遗传结构；边缘小群体；地理隔离；巩留县；新疆

新疆野苹果（*Malus sieversii*）是栽培苹果的主要祖先来源[1-2]，已被国家二级保护植物名录和中国植物红皮书收录其中[3]。由于历史时期生态环境的剧烈变化，目前新疆野苹果呈岛屿状片段化残存于气候比较适宜的亚洲中部山地[4]。在我国境内，它仅间断分布于准噶尔西部山地和伊犁河谷地区，主要包括新源县、巩留县、伊宁县、霍城县以及额敏县和托里县 6 个县。

为了筛选出优先保护种群，针对国内 6 个新疆野苹果种群的遗传多样性已经做了大量研究工作[5-9]。综合前人的研究成果，发现巩留种群具有较高的遗传多样性水平，并被推荐为优先保护种群[9]。由于自然环境变化，近年来的农田开发、砍伐[10]和病虫害[11]，新疆野苹果分布区面积不断缩小、生境也呈现出逐渐破碎化趋势。现今，巩留地区的新疆野苹果就破碎为大莫合尔、小莫合尔、八连、萨哈、二乡等小群体[12]（表 1，图 1）。而有关这些片段化分布小群体间的遗传多样性和遗传格局尚未见报道。

生境片段化对植物种群具有复杂的遗传效应。生境长期处于片段化，这时种群会长期分割为小群体、相对隔离；小群体通常会经历遗传漂变和近交作用；最终在隔离效应作用下改变原来的基因流[13]。

表 1 巩留片段化分布的新疆野苹果（*Malus sieversii*）小群体样点信息

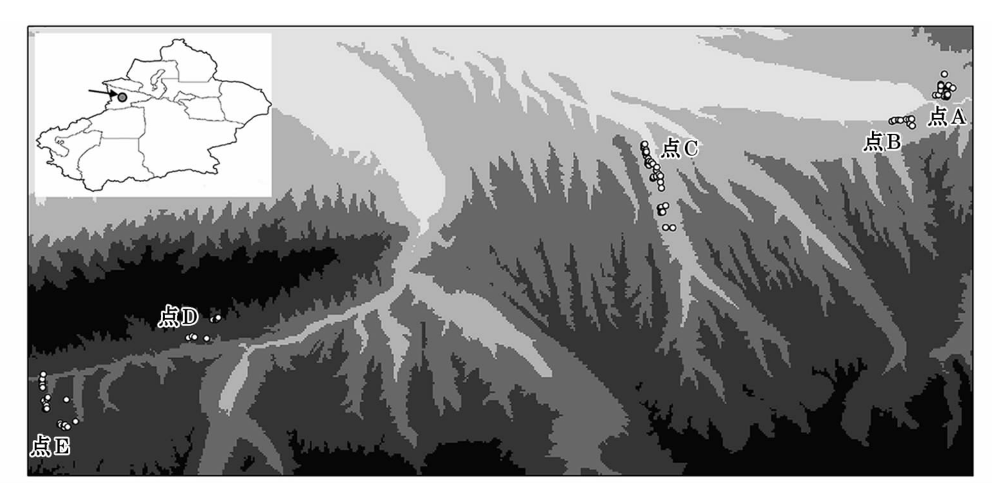
Tab. 1 Geographical information of fragmented sampling locations from *Malus sieversii* population in Gongliu County

样点编号	地点	经度（E）/（°）	纬度（N）/（°）	海拔/m
A	萨哈	82.43	43.12	1 274
B	八连	82.51	43.15	1 275
C	大莫合尔	82.72	43.22	1 236
D	小莫合尔 1	82.83	43.24	1 329
E	小莫合尔 2	82.85	43.26	1 291

解析生境片段化状态下的种群遗传结构特征对于优化保护策略具有重要意义，也是保护生物学研究的热点。包文泉等[14]运用 SSR 分子标记手段，探究了西藏光核桃群体遗传多样性和遗传结构，并提出了片段化分布格局下西藏光核桃的保护建议。在干旱区，针对沙冬青[15]、沙生柽柳[16]和新疆贝母[17]等保护植物的研究发现，生境片段化会促使种群间基因流受限，并产生遗传分化。

在探测亲缘关系十分接近的群体间遗传谱系关系时，通常采用多态性比较高的分子标记手段，诸如 SSR、RFLP、RAPD、AFLP 和 ISSR 等[18]。其中，SSR 分子标记具有操作简单、多态性高、覆盖面广、共显性、重复性高等优点，能够很好满足遗传多样性等研

① **收稿日期：** 2019－06－11； **修订日期：** 2019－10－28
基金项目： 国家自然科学基金项目（31870323）；中国科学院青年创新促进会项目（2019428）资助
作者简介： 张宏祥（1986－），男，副研究员，研究方向为干旱区植物资源保护. E-mail：zhanghx561@ms. xjb. ac. cn



注：左上小图箭头指示巩留种群的地理位置；大图中颜色由浅到深表示海拔由低到高；大图中白色圆点表示采集植株样品的位置；点 A 至点 E 的具体地理信息与表 1 中一致。下同。

图 1 巩留片段化分布的新疆野苹果(*Malus sieversii*)小群体样点

Fig. 1 Distribution map of fragmented sampling locations from *Malus sieversii* population in Gongliu County

究要求。为了探究生境片段化对新疆野苹果种群遗传结构的影响，本研究以遗传多样性水平较高的巩留种群作为研究对象。从 5 个片段化小群体样点(图 1)采集植株样品材料，并利用微卫星(SSR)手段标记每个植株样品遗传信息。其目的在于：① 弄清不同小群体样点间的遗传多样性水平差异和遗传谱系关系；② 解析大种群尺度遗传多样性的地理空间格局，评估生境破碎化对巩留种群遗传结构的影响。基于上述两点，试图提出新疆野苹果种群在片段化状态下的保护与恢复建议。

1 材料与方法

1.1 植物材料采集

由于生境破碎化，巩留分布的新疆野苹果种群呈现多个片段分布区(表 1，图 1)。研究采集了来自 5 个不同小群体样点共 101 个植株个体样本。其中，萨哈样点(点 A)的个体 18 株；八连样点(点 B)的个体 19 株；大莫合尔样点(点 C)的个体 36 株；小莫合尔 1 样点(点 D)的个体 10 株；小莫合尔 2 样点(点 E)的个体 18 株。采集的植株个体样品间隔大于 50 m，并用 GPS 记录每个植株的地理位置信息。每个样品采集新鲜叶片并在野外立即用硅胶干燥，之后带回实验室保存。

1.2 DNA 提取、扩增和微卫星(SSR)标记

每个样品的总基因组 DNA 利用 CTAB 法[19]提取，每个植株样品取约 50 mg 的硅胶干燥叶片研磨。微卫星(SSR)分子标记实验所用的引物均来自前人发表的新疆野苹果 SSR 标记引物[20-21]。经对前人 SSR 标记引物的筛选，最终选出 6 对具有多态性的引物，并加载 5′端荧光信号。PCR 反应体系和扩增程序按照 Zhang 等[8]设定。利用筛选的 6 对 SSR 引物对所有样品进行分子标记，PCR 产物片段长度由上海生工生物技术公司测定。测定的结果通过 GeneMapper 软件校正确定。

1.3 数据分析

基于获得的 SSR 分子标记数据，运用 GenAlEx 6.5 软件[22]计算每个样点的遗传多样性指数：包括等位基因数(N_a)、观测杂合度(H_o = No. of Hets/N)、期望杂合度($H_e = 1 - \sum P_i^2$，P_i 为种群等位基因频度)、无偏期望杂合度[$uH_e = 2N/(2N-1) \times H_e$]和固定指数[$F = 1 - (H_o/H_e)$]。此外，统计了每个等位基因在 5 个样点出现的频率。运用 SPSS 软件中的 t 检验法检验了观测杂合度(H_o)、期望杂合度(H_e)、无偏期望杂合度(uH_e)和等位基因频率在不同样点之间的差异显著性。使用 Arlequin 3.11 软件[23]进行分子方差分析，来计算居群内及居群间遗传变异的分配比例。为了确定 5 个不同样点新疆野苹果群体之间的遗传谱系关系，基于 SSR 标记数据计算了无偏 Nei 遗传距离矩阵。依据此遗传距离矩阵，通过 MEGA 6.0 软件[24]构建了 Unweighted Pair Group Method With Arithmetic Mean (UPGMA) 系统发育树。同时，运用 GenAlEx 6.5 软件[22]对 5 个样点的 SSR 标记数据进行 PCoA 主成分分析。为了探究遗传变异与地理距离之间的关系，运用 Al-

leles In Space 软件[25]对所有样品的 SSR 等位基因地理分布进行遗传景观分析。对遗传景观分析的结果,运用 ArcMap 软件进行克里金差值,获得遗传差异在地理空间上的分布格局。另外,通过对 5 个样点间的无偏 Nei 遗传距离和地理距离进行标准化,获得标准化的数据矩阵。并在 SPSS 软件中对遗传距离与地理距离之间的相关性进行了地理隔离效应(IBD)分析。

2　结果和分析

依据获得的 SSR 数据,计算出每个样点的等位基因数为 27 ~ 40;观测杂合度(H_o)为 0.468(±0.045)~0.590(±0.076);期望杂合度(H_e)为 0.583(±0.085)~0.657(±0.056);无偏期望杂合度(uH_e)从 0.599(±0.088)到 0.676(±0.058)(表 2)。比较 5 个样点的新疆野苹果遗传多样性指数(H_e),点 E > 点 A > 点 C > 点 D > 点 B(表 2),且不同样点间差异具有显著性($P < 0.001$)。从固定指数(F)上来看,点 E 和点 C 具有较高的固定指数(表 2),这说明它们具有较高水平的近交繁殖特征。通过对比 5 个样点间等位基因频率差异,发现不同样点间差异显著的高频度等位基因(Frequency > 0.01)数目很多(20/23),而差异显著的低频度等位基因(Frequency < 0.01)数量很少(4/27)(表 3)。分子方差分析结果表明:在巩留地理种群总的遗传变异中,只有 0.73% 的变异存在于不同小群体间,而 99.27% 的变异存在于小群体内,即小群体内的变异大于小群体间。

运用 UPGMA 方法基于 SSR 数据无偏 Nei 遗传距离矩阵构建的谱系聚类树(图 2),发现 5 个样点聚为两个谱系,其中样点 A、样点 B 和样点 C 聚为一支;样点 D 和样点 E 聚为另一支系。PCoA 主成分分析(图 3)表明,轴一解释了 92.7% 的遗传变异,其结果与聚类树展示的结果相类似:样点 A、样点 B 和样点 C 具有较近的遗传关系;而样点 D 和样点 E 具有较近的遗传关系。遗传景观分析结果(图 4)显示,从地理空间来看,样点 A、样点 C 和样点 E 呈现出遗传多样性中心;而样点 B 和样点 D 则是遗传多样性洼地。通过检验地理隔离效应(IBD),发现遗传距离随地理距离增加而增加(图 5),但由于样点量较少,仅表现出一定的显著性($P = 0.055$)。

表 2　不同小群体样点之间的遗传多样性指数比较

Tab. 2　Genetic diversity of different fragmented sampling locations

样点编号	样本个体数 N	等位基因数 N_a	观测杂合度 H_o(±SD)	期望杂合度 H_e(±SD)	无偏期望杂合度 uH_e(±SD)	固定指数 F(±SD)
A	18	39	0.590(0.076)	0.640(0.080)	0.658(0.083)	0.056(0.068)
B	19	34	0.498(0.069)	0.583(0.085)	0.599(0.088)	0.106(0.085)
C	36	40	0.468(0.045)	0.615(0.063)	0.624(0.064)	0.197(0.104)
D	10	27	0.557(0.053)	0.605(0.042)	0.637(0.044)	0.053(0.109)
E	18	36	0.491(0.033)	0.657(0.056)	0.676(0.058)	0.226(0.077)

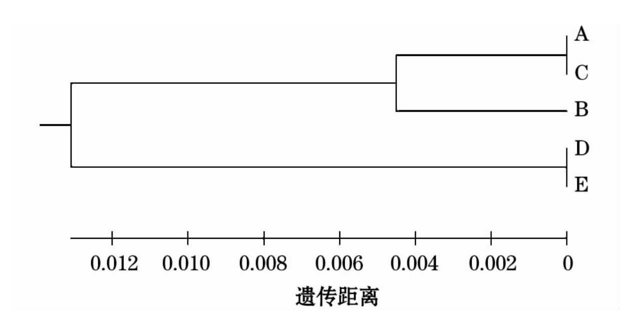


图 2　基于 SSR 分子标记的无偏 Nei 遗传距离矩阵构建的 5 个小群体样点 UPGMA 谱系聚类树

Fig. 2　UPGMA clustering tree of Nei unbiased genetic distance among five fragmented sampling locations based on SSR loci

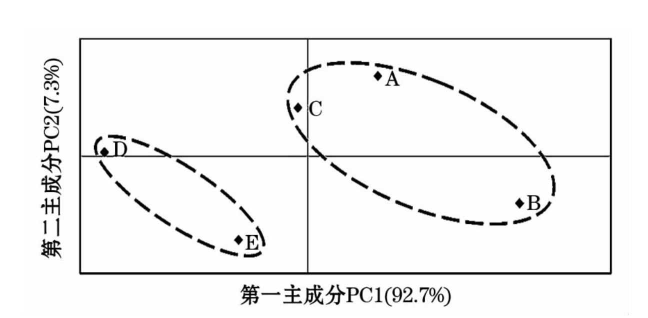


图 3　基于 SSR 分子标记的 5 个小群体样点遗传距离 PCoA 主成分分析

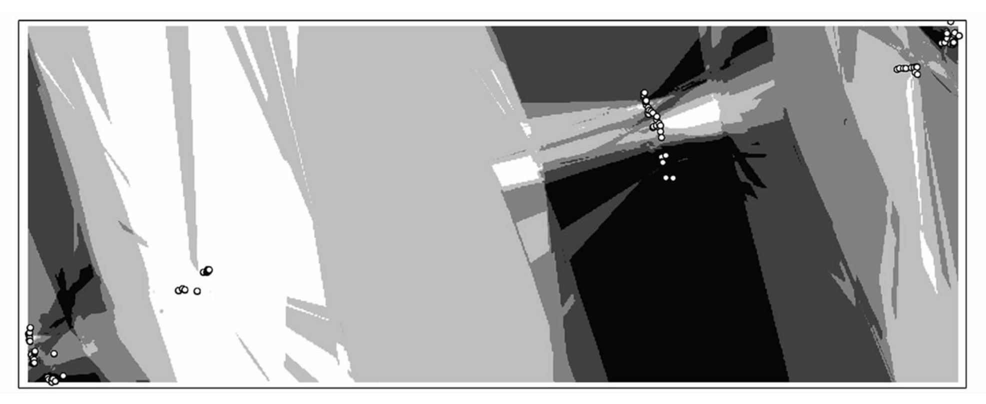
Fig. 3　Principal coordinate analysis (PCoA) of genetic distances among five fragmented sampling locations based on SSR loci

表 3 50 个等位基因在不同小群体样点之间出现频率的比较

Tab. 3 Frequency of 50 alleles among different fragmented sampling locations

等位基因编号	5 个样点出现频率均值 (Frequency)	5 个样点出现频率方差 (SD)	5 个样点间差异显著性检验 (*P*-value)	等位基因编号	5 个样点出现频率均值 (Frequency)	5 个样点出现频率方差 (SD)	5 个样点间差异显著性检验 (*P*-value)
Allele 1	0.132	0.015 85	* * *	Allele 26	0.009	0.007 13	* *
Allele 2	0.098	0.013 83	* * *	Allele 27	0.005	0.003 66	* *
Allele 3	0.084	0.014 32	* * *	Allele 28	0.005	0.005 80	0.117
Allele 4	0.076	0.012 91	* * *	Allele 29	0.004	0.004 41	0.087
Allele 5	0.061	0.012 12	* * *	Allele 30	0.004	0.003 44	0.053
Allele 6	0.057	0.012 64	* * *	Allele 31	0.004	0.003 10	* *
Allele 7	0.053	0.005 30	* * *	Allele 32	0.004	0.006 05	0.237
Allele 8	0.050	0.005 87	* * *	Allele 33	0.004	0.003 86	0.102
Allele 9	0.043	0.020 15	* *	Allele 34	0.003	0.005 71	0.293
Allele 10	0.032	0.010 93	* *	Allele 35	0.003	0.004 14	0.208
Allele 11	0.026	0.010 75	* *	Allele 36	0.003	0.004 12	0.212
Allele 12	0.026	0.013 55	* *	Allele 37	0.003	0.003 78	0.200
Allele 13	0.026	0.020 36	* *	Allele 38	0.002	0.003 42	0.192
Allele 14	0.025	0.023 56	0.079	Allele 39	0.002	0.003 61	0.258
Allele 15	0.020	0.010 43	* *	Allele 40	0.002	0.002 61	0.178
Allele 16	0.018	0.008 54	* *	Allele 41	0.002	0.002 54	0.178
Allele 17	0.015	0.014 99	0.085	Allele 42	0.002	0.002 54	0.178
Allele 18	0.014	0.008 09	* *	Allele 43	0.002	0.004 14	0.374
Allele 19	0.012	0.007 37	* *	Allele 44	0.001	0.002 09	0.204
Allele 20	0.011	0.003 33	* *	Allele 45	0.001	0.002 09	0.204
Allele 21	0.011	0.007 58	* *	Allele 46	0.001	0.002 07	0.208
Allele 22	0.010	0.005 98	* *	Allele 47	0.001	0.002 07	0.208
Allele 23	0.010	0.009 68	0.086	Allele 48	0.001	0.002 07	0.208
Allele 24	0.009	0.005 67	* *	Allele 49	0.001	0.002 07	0.374
Allele 25	0.009	0.011 23	0.149	Allele 50	0.001	0.001 96	0.374

注：* * * 表示 $P<0.001$；* * 表示 $P<0.05$。



注：颜色由浅到深表示遗传距离由低到高；白色圆点表示采集植株样品的位置。

图 4 巩留片段化分布新疆野苹果(*Malus sieversii*)的空间遗传多样性

Fig. 4 Spatial pattern of genetic diversity across the *Malus sieversii* population in Gongliu County

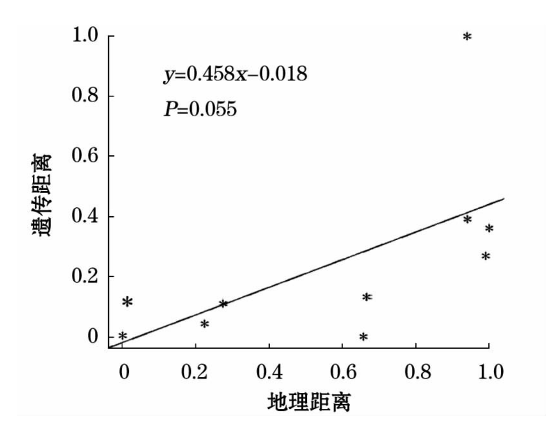


图 5　不同小群体样点间的遗传距离与地理距离相关性分析

Fig. 5　Correlation analysis of pairwise genetic distances and geographical distances among five fragmented sampling locations

3　讨 论

新疆野苹果是将来栽培苹果育种与品种改良的重要野生种质基因库,保存与维持种质遗传多样性是保育该物种的关键。相较于国内其他 5 个新疆野苹果种群,巩留分布的种群具有较高的遗传多样性水平[6-7],它也被认为是应该受到优先保护的地理种群。崔志军等[11]通过调查发现,巩留地区的新疆野苹果种群存在多个独立的小群体。而且,这些小群体之间面临着不同程度的小吉丁虫害灾情。例如,大莫合尔要比小莫合尔、八连、萨哈等地的虫害程度轻一些。然而,认清不同小群体间的遗传多样性和遗传谱系关系,并结合每个小群体面临的生存危机,对于科学保护与恢复巩留种群的种质资源具有重要意义。

通过对比巩留分布的片段化小群体之间的遗传多样性水平差异,发现不同小群体间存在着显著的遗传差异(表 2,图 4)。其中位于边缘的样点 A(萨哈)和样点 E(小莫合尔 2),以及位于中部的样点 C(大莫合尔)具有高水平的遗传多样性。这与种群遗传学的中心－边缘假说不一致,即位于中心区的群体遗传多样性要高于边缘群体。而前人研究发现,紫椴(*Tilia amurensis*)[26]、红松(*Pinus koraiensis*)[27]、辽东栎(*Quercus liaotungensis*)[28]等均符合中心－边缘假说。此外,本研究结果还显示,5 个新疆野苹果小群体之间遗传差异大多出现在高频度等位基因位点上(表 3)。这说明位于边缘区域的小群体也可能保存着大量重要的基因资源,需要在未来的保护规划中足够重视。在筛选核心种质资源库时,应当充分考虑收集来自这些边缘小群体的样品。同时发现这些小群体内部也具有丰富的遗传变异,这与前人研究结果相类似[29]。

从遗传谱系关系上来看,这 5 个片段化分布的新疆野苹果小群体可以划分为两个不同的支系(图 2,图 3)。其中位于东部的样点 A(萨哈)、样点 B(八连)和样点 C(大莫合尔)具有较近的亲缘关系;位于西部小莫合尔的样点 D 和样点 E 具有近缘的遗传关系。这一结果说明在巩留的地理种群内部存在两个不同的进化单元,在未来的种质资源保育和核心种质库构建过程中应当得到重视。这也是首次报道新疆野苹果种群内部遗传谱系关系,并对以前有关不同地理种群的遗传结构信息[5-9]是一个重要的补充。而形成这样的遗传谱系结构可能与新疆野苹果的生境条件密切相关。本研究发现东西两个遗传谱系间的海拔位置存在一定差异,其中东部 3 个小群体位于海拔较低的沟谷中;而西部 2 个小群体位于海拔较高的山坡上(图 1)。由于海拔条件的差异,东西两种不同生境小群体间的基因交流远低于相同生境。长期的地理阻隔便产生了两个谱系的分化。在巩留地区,新疆野苹果的分布区主要集中在海拔 1 200 ~ 1 350 m 的沟谷和山坡(表 1)。在这种特殊海拔条件限制下,较高的山体将新疆野苹果的生境切割成多个片段化小群体(图 1)。这些山体充当了阻碍片段化生境下小群体间基因交流的重要地理屏障,表明这 5 个不同小群体间存在地理隔离效应(图 5)。这种地理障碍阻隔群体间基因交流的效应已经有大量的实例报道[16,30]。

4　结 论

目前,片段化生境下的巩留 5 个新疆野苹果小群体间存在着遗传多样性水平的差异。处于边缘位置的小群体保存了高水平的遗传多样性。5 个小群体之间存在着地理隔离效应,它们可以划分为东西两个不同的遗传谱系。不同小群体分布区之间的山体充当了阻碍基因交流的地理屏障,长期的片段化状态促使了遗传分化。这些遗传结构特征显示,在将来的新疆野苹果种质资源保育和核心种质库构建过程中应当重点考虑边缘小群体和不同的遗传谱系。

参考文献(References):

[1]　Velasco R,Zharkikh A J,Dhingra A,et al. The genome of the do-

mesticated apple (*Malus* × *domestica* Borkh.)[J]. Nature Genetics,2010,42(10):833－839.
[2] Duan N,Yang B,Sun H,et al. Genome re-sequencing reveals the history of apple and supports a two-stage model for fruit enlargement[J]. Nature Communications,2017,8(1):249.
[3] 傅立国,金鉴明. 中国植物红皮书——稀有濒危植物[M]. 北京:科学出版社,1992. [Fu Liguo,Jin Jianming. China Plant Red Book:Rare and Endangered Plants[M]. Beijing:Science Press,1992.]
[4] 阎国荣,许正. 中国新疆野生果树研究[M]. 北京:中国林业出版社,2010. [Yan Guorong,Xu Zheng. Study on the Wild Fruit Trees in Xinjiang,China[M]. Beijing:China Forestry Publishing House,2010.]
[5] 秦伟,沙红,刘立强,等. 新疆野苹果资源遗传多样性 SSR 分析[J]. 果树学报,2012,29(2):161－165. [Qin Wei,Sha Hong,Liu Liqiang,et al. SSR analysis for genetic diversity of *Malus sieversii* from Xinjiang,China[J]. Journal of Fruit Science,2012,29(2):161－165.]
[6] Zhang C Y,Chen X S,He T M,et al. Genetic structure of *Malus sieversii* population from Xinjiang,China,revealed by SSR markers[J]. Journal of Genetics and Genomics,2007,34(10):947－955.
[7] 张春雨,陈学森,林群,等. 新疆野苹果群体遗传结构和遗传多样性的 SRAP 分析[J]. 园艺学报,2009,36(1):7－14. [Zhang Chunyu,Chen Xuesen,Lin Qun,et al. SRAP markers for population genetic structure and genetic diversity in *Malus sieversii* from Xinjiang,China[J]. Acta Horticulturae Sinica,2009,36(1):7－14.]
[8] Zhang H X,Zhang M L,Wang L N. Genetic structure and historical demography of *Malus sieversii* in the Yili Valley and the western mountains of the Junggar Basin,Xinjiang,China[J]. Journal of Arid Land,2015,7(2):264－271.
[9] Zhang H X,Li H Y,Li Y X. Identifying evolutionarily significant units for conservation of the endangered *Malus sieversii* using genome-wide RADseq data[J]. Nordic Journal of Botany,2018,36(7):e01733.
[10] 阎国荣,张立运,许正. 天山野果林生态系统受损现状及其保护[J]. 干旱区研究,1999,16(4):1－4. [Yan Guorong,Zhang Liyun,Xu Zheng. The suffer losses for wild fruits forest ecosystem of Tianshan Mts in Xinjiang and its conservation[J]. Arid Zone Research,1999,16(4):1－4.]
[11] 崔志军,张彦龙,罗朝辉,等. 苹果小吉丁虫(*Agrilus mali* Matsumura)对野苹果林的危害及其评估[J]. 干旱区研究,2018,35(5):1153－1159. [Cui Zhijun,Zhang Yanlong,Luo Zhaohui,et al. Damage of *Agrilus mali* Matsumura in wild apple forest and its assessment[J]. Arid Zone Research,2018,35(5):1153－1159.]
[12] 林培钧,崔乃然. 天山野果林资源——伊犁野果林综合研究[M]. 北京:中国林业出版社,2000. [Lin Peijun,Cui Nairan. Wild Fruit Forest Resources in the Tianshan Mountains:A Comprehensive Research of Ili Wild Fruit Forest[M]. Beijing:China Forestry Publishing House,2000.]
[13] 陈小勇. 生境片断化对植物种群遗传结构的影响及植物遗传多样性保护[J]. 生态学报,1999,20(5):884－892. [Chen Xiaoyong. Effects of habitat fragmentation on genetic structure of plant populations and implications for the biodiversity conservation[J]. Acta Ecologica Sinica,1999,20(5):884－892.]
[14] 包文泉,乌云塔娜,杜红岩,等. 基于 SSR 标记的西藏光核桃群体遗传多样性和遗传结构分析[J]. 林业科学,2018,54(2):30－41. [Bao Wenquan,Wuyun Tana,Du Hongyan,et al. Genetic diversity and population structure of *Amygdalus mira* in the Tibet Plateau in China based on SSR markers[J]. Scientia Silvae Sinicae,2018,54(2):30－41.]
[15] 苏志豪,师玮,卓立,等. 沙冬青(*Ammopiptanthus*)的遗传结构与保育[J]. 中国沙漠,2018, 38(1):163－171. [Su Zhihao,Shi Wei,Zhuo Li,et al. Genetic structure of *Ammopiptanthus* and its conservation implications[J]. Journal of Desert Research,2018,38(1):163－171.]
[16] 苏志豪,卓立,李文军,等. 塔里木盆地沙生柽柳(*Tamarix taklamakanensis*)遗传多样性[J]. 中国沙漠,2018,38(5):1041－1048. [Su Zhihao,Zhuo Li,Li Wenjun,et al. Genetic diversity of *Tamarix taklamakanensis* in the Tarim Basin[J]. Journal of Desert Research,2018,38(5):1041－1048.]
[17] 苏志豪,潘伯荣,卓立,等. 中国天山山区新疆贝母居群遗传多样性及其环境适应性[J]. 干旱区研究,2017,34(1):119－125. [Su Zhihao,Pan Borong,Zhuo Li,et al. Genetic diversity and environmental adaptabilit of *Fritillaria walujewii* in the Tianshan Mountains,Xinjiang, China[J]. Arid Zone Research,2017,34(1):119－125.]
[18] 黎裕,贾继增,王天宇. 分子标记的种类及其发展[J]. 生物技术通报,1999,15(4):19－22. [Li Yu,Jia Jizeng,Wang Tianyu. Types of molecular markers and their development[J]. Biotechnology Information,1999,15(4):19－22.]
[19] Doyle J J,Doyle J L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue[J]. Phytochemical Bulletin,1986,19(1):11－15.
[20] Hokanson S C,Szewcmcfadden A K,Lamboy W F,et al. Microsatellite (SSR) markers reveal genetic identities,genetic diversity and relationships in a *Malusx domestica* borkh. core subset collection[J]. Theoretical and Applied Genetics,1998,97(5):671－683.
[21] Richards C M,Volk G M,Reilley A A,et al. Genetic diversity and population structure in *Malus sieversii*,a wild progenitor species of domesticated apple[J]. Tree Genetics & Genomes,2009,5(2):339－347.
[22] Peakall R,Smouse P E. GenAlEx 6.5:Genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research:An update[J]. Bioinformatics,2012,28(19):2537－2539.
[23] Excoffier L,Smouse P E,Quattro J M. Analysis of molecular vari-

ance inferred from metric distances among DNA haplotypes：Application to human mitochondrial DNA restriction data[J]. Genetics，1992，131(2)：479－491.

[24] Tamura K，Stecher G，Peterson D，et al. MEGA6：Molecular evolutionary genetics analysis version 6.0[J]. Molecular Biology & Evolution，2013，30(12)：2725－2729.

[25] Miller M. Alleles in space (AIS)：Computer software for the joint analysis of interindividual spatial and genetic information[J]. Journal of Heredity，2005，96(6)：722－724.

[26] 穆立蔷. 紫椴种群地理变异与环境相关性研究[D]. 哈尔滨：东北林业大学，2006. [Mu Liqiang. Relationship between Geographical Variation and Environment for *Tilia amurensis* Populations[D]. Harbin：Northeast Forestry University，2006.]

[27] 冯富娟. 天然红松种群遗传生态学的研究[D]. 哈尔滨：东北林业大学，2003. [Feng Fujuan. Genetics and Ecology of Natural *Pinus koraiensis* Populations[D]. Harbin：Northeast Forestry University，2003.]

[28] Yun R，Zhong M，Wang H X，et al. Study on DNA diversity of Liaodong oak population at Dongling Mountain region，Beijing[J]. Acta Botanica Sinica，1998，40(2)：169－175.

[29] 董研，张军，任亚超，等. 中国新疆野苹果天然群体遗传多样性SSR分析[J]. 植物遗传资源学报，2013，14(5)：771－777. [Dong Yan，Zhang Jun，Ren Yachao，et al. Study on genetic diversity of natural population in *Malus sieversii* with microsatellite[J]. Journal of Plant Genetic Resources，2013，14(5)：771－777.]

[30] 张瑜，鄢家俊，白史且，等. 四川野生斑茅居群遗传结构的SRAP分析[J]. 中国草地学报，2015，37(1)：15－21. [Zhang Yu，Yan Jiajun，Bai Shiqie，et al. SRAP analysis of genetic structure of wide *Erianthus arundinaceum* populations in Sichuan China[J]. Chinese Journal of Grassland，2015，37(1)：15－21.]

Effect of habitat fragmentation on the population genetic structure of *Malus sieversii*

ZHANG Hong-xiang[1]， ZHENG Tian-yong[2]

(1. *CAS Key Laboratory of Biogeography and Bioresources in Arid Land*，*Xinjiang Institute of Ecology and Geography*，*Chinese Academy of Sciences*，*Urumqi* 830011，*Xinjiang*，*China*；

2. *South China Botanical Garden*，*Chinese Academy of Sciences*，*Guangzhou* 510650，*Guangdong*，*China*)

Abstract： Habitat fragmentation has complex genetic effects on plant populations. *Malus sieversii* exists in a few small fragmented subpopulations within a geographical population. For this study，we chose the geographical population of Gongliu，which has a high level of genetic diversity. The genotypes of 101 individuals from five subpopulations were marked using SSR loci. By analyzing the difference in genetic diversity and the genetic relationships among these five subpopulations，we aimed to investigate the effect of habitat fragmentation on the population genetic structure of *Malus sieversii*. The results showed that different levels of genetic diversity existed among these five subpopulations，in which a high level of genetic diversity was shown in marginal subpopulations of Saha and Xiaomoheer 2. These five subpopulations were clustered into two genetic lineages，which displayed an east-west split due to the effect of geographical isolation. It is proposed that these marginal subpopulations and different genetic lineages should be considered during the processing of germplasm resource protection and the core collection of germplasm for *M. sieversii*.

Key words： *Malus sieversii*；habitat fragmentation；germplasm resource；genetic structure；marginal subpopulations；geographical isolation；Gongliu County；Xinjiang